

Ⅲ型分泌装置(T3SS)阻害活性を有する Aurodox の全合成研究

感染制御科学専攻・生物有機化学

DI-18001 大原 基義

【背景・目的】Ⅲ型分泌装置 (Type III Secretion System: T3SS) は多くのグラム陰性細菌に高度に保存され、宿主にエフェクタータンパク質を注入することで病原性を発揮することが知られている。これまでにサルモネラ属、エルニシア属、クラミジア属、ボルデテラ属緑膿菌、赤痢菌、腸管病原性大腸菌(Enteroaggregative *Escherichia coli*: EPEC)、腸管出血性大腸菌および植物性病原細菌にもその存在が報告されている。これらの病原性細菌が病原性を発揮する際には T3SS が重要な役割を果たす一方で生存には必須でないことも明らかとなっている^{1,2)}。そこで T3SS を特異的に阻害することで病原菌の生存に影響を与えず、感染過程のみを阻害する新たな作用メカニズムを標的とすることで、これまで抗菌薬使用で問題となってきた「耐性菌の出現」、「細菌破壊に伴う内毒素の放出」や「正常細菌叢の乱れ」の克服が期待できる。

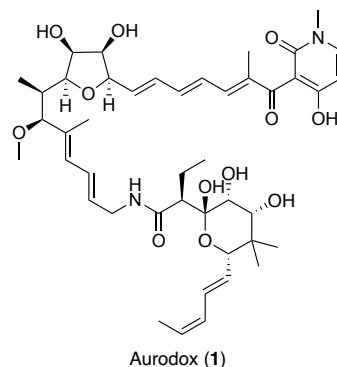


Fig.1 Aurodox (1)の構造

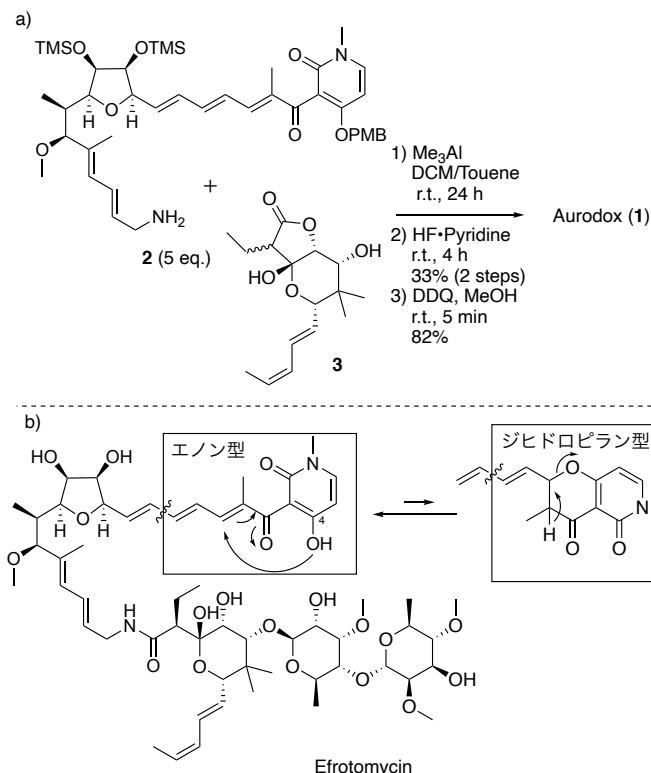
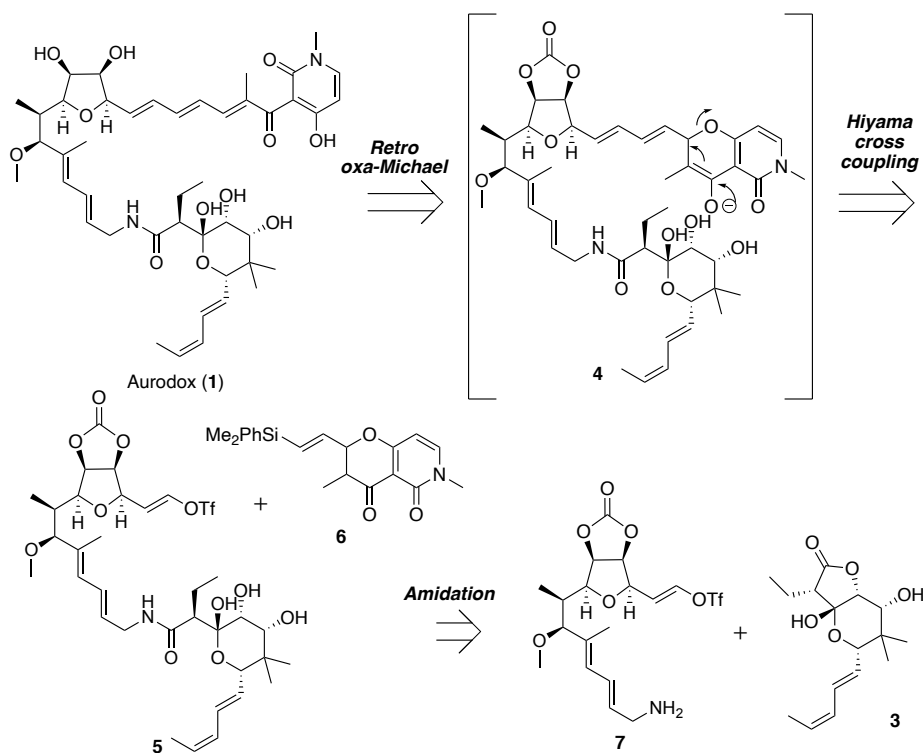


Fig.2 a) K. C. Nicolaou らの全合成、b) Efrotomycin の平衡異

この様な背景のもと大村智記念研究所において EPEC を用いた溶血反応阻害活性試験を行った結果、*Streptomyces* sp. K06-0804 株培養液中から Aurodox (1) が見出された (Fig. 1)。1 は溶血反応を $IC_{50} = 1.2 \mu\text{g/mL}$ で阻害したのに対し、EPEC に対する抗菌活性は $IC_{50} = 40 \mu\text{g/mL}$ でありその差は 33 倍の選択性を示した³⁾。さらにグラム陰性細菌感染モデルマウスを用いた試験の結果、1 投与群は不処理の群と比べ有意に感染を抑制する結果が得られた。これまでに Aurodox 類が Elongation factor Tu (EF-Tu) に作用してタンパク質合成を阻害す

ることにより抗菌活性⁴⁾を示すことは知られているが、T3SS の関与については未だその詳細は明らかとなっていない。そこで新たな抗感染症薬創製を目的に Aurodox の全合成研究に着手した。

【方法】Aurodox (**1**)の合成研究はこれまでに K. C. Nicolaou らによって **1** を含む類縁天然物の全合成が達成されている⁵⁾。その中で全合成終盤のアミン **2** とヘミアセタールラクトン **3** のカップリング反応は低収率に止まっており、その原因として **2** の求電子性の高いエノン部位がマイケルアクセプターとして働き副反応を誘発していると考えられる(**Fig. 2a**)。また **1** の類縁天然物である eftomycin においても鎖状エノン型とピリドン 4 位の水酸基と近傍に有するエノンとの分子内 oxa-Michael 反応を経由したジヒドロピラン型との平衡反応が報告されている (**Fig. 2b**)⁶⁾。以上の知見を踏まえ、構造活性相関解明を視野に入れた収束的な合成戦略を立案した(**Scheme 1**)。すなわち特異な反応性を示すピリドン部位は合成終盤においてジヒドロピラン型で調製した **6** との檜山



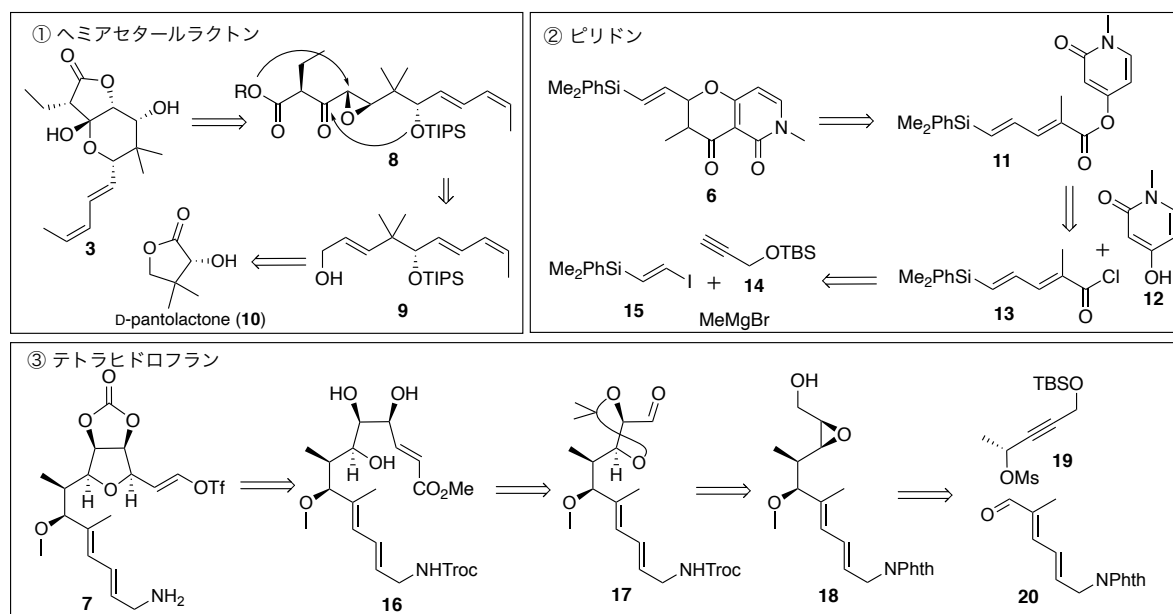
Scheme 1 Aurodox (**1**)の合成戦略

クロスカップリングで導入することで retro oxa-Michael 反応によるトリエン形成によって **1** の構築が達成できるものとし、**5** は K. C. Nicolaou らの手法を参考にアミン **7** とヘミアセタールラクトン **3** とのアミド化によって合成可能と想定した。各フラグメント **3** と **6**、**7** の逆合成解析の詳細は以下に示す (**Scheme 2**)。

① ヘミアセタールラクトン **3**：二環性の **3** は、鎖状に炭素骨格を構築した後に環形成することで効率的に合成可能と考え、鎖状エポキシ **8** からラクトンの形成と、ヘミアセタール環化させることとし、**8** はネオペンチル位オレフィンの立体かつ化学選択的なエポキシ化反応と三度のオレフィン形成反応を用いて市販試薬である D-pantolactone (**10**)から構築できるものとした。

② **ピリドン 6**：ピリドンに渡環するジヒドロピランは Douglas らの手法⁷⁾を参考に 4-ヒドロキシピリドン **12** と酸塩化物 **13** とのエステル化を経由したアシル転位、oxa-Michael 反応によってジヒドロピラン環を一挙に構築できるものと想定し、*E,E*-ジエンを含む側鎖ユニット **13** はプロパルギルアルコール **14** からカルボメタル化とビニルヨウ素 **15** とのクロスカップリングを連続的に反応させることで効率的な構築できるものと考えた。

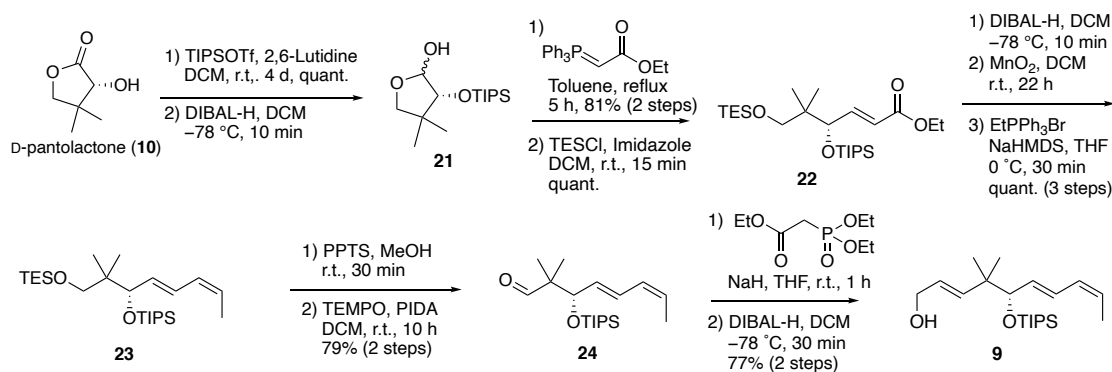
③ **テトラヒドロフラン 7**：テトラヒドロフランを含む連続不斉炭素はアンチ選択的 Marshall プロパルギル化反応を起点とし、基質の立体化学を利用しながら炭素骨格の構築を行い oxa-Michael 反応を用いたテトラヒドロフラン環形成によって得られるものとした。また **20** の *E,E*-ジエンはピリドンフラグメントの合成法と同様の手法を用いることで効率的に合成できるものと考えた。



Scheme 2 各フラグメントの逆合成解析

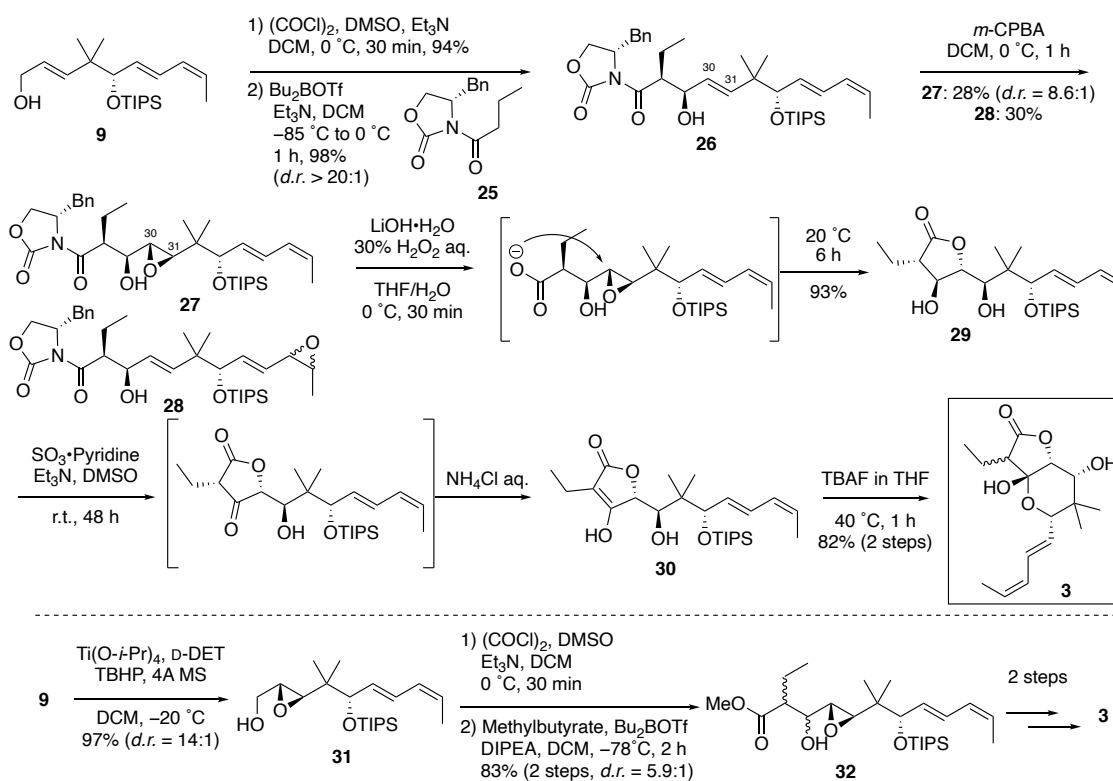
【結果・考察】逆合成解析に従い合成に取り組み、3つのフラグメントの基本骨格の構築に達成したのでその詳細について以下に述べる。

① **ヘミアセタールラクトン 3** の合成：トリオレフィンを含むアリルアルコール **9** の幾何選択的なオレフィン構築に着手した(Scheme 3)。市販試薬である D-pantolactone (**10**)から水酸基に TIPS 基を導入した後に、ラクトンの還元によってラクトール **21** へと導き、加熱条件下 Wittig 試薬を作用させることで *E* 選択的にオレフィンを構築し、生じた第一級水酸基に TES 基を導入した。得られたエステル **22** に対して還元酸化工程を経て *Z* 選択的な Wittig 反応により *E,Z*-ジエン **23** を合成した。続いて第一級水酸基の保護基の除去と TEMPO 酸化を経てアルデヒド **24** へとした後 *E* 選択的 HWE 反応を行い、得られたエステルを還元することでアリルアルコール **9** を合成した。



Scheme 3 アリルアルコール **9** の合成

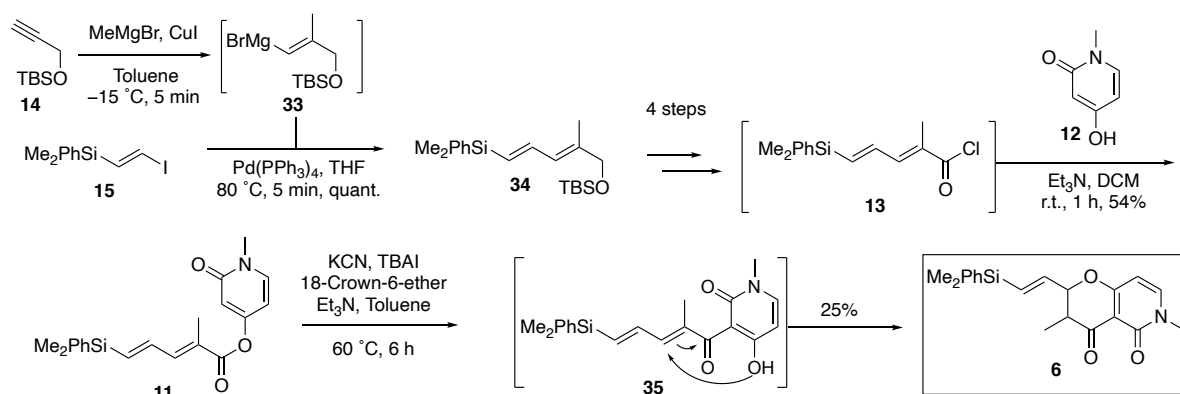
次に鍵となるネオペンチル位に位置する C-30, 31 オレフィンの立体選択的エポキシ化とラクトン形成、ヘミアセタール環形成に取り組んだ(**Scheme 4**)。トリオレフィン有する **9** を位置・立体選択的なエポキシ形成を目的にアルドール反応によって生じる水酸基の立体化学を利用して検討を行った。Swern 酸化によってアルデヒドへと導いた後に、(*S*)-4-benzyl-3-butyryl-2-oxazolidinone (**25**)を用いた Evans アルドール反応を行ったところ高い収率かつジアステレオ選択的に **26** が得られた。続いて *m*-CPBA を用いたところ立体選択的に目的の鎖状エポキシド **27** が得られ、それと同時に末端側の *Z* オレフィンのエポキシ化も競合する結果が得られた (**27**: 28%, *d.r.* = 8.6:1、**28**: 30%)。その他のエポキシ化条件も検討したが収率改善には至らず、続くラクトン形成を検討した。得られた **27** に対して塩基性条件下加水分解を行い生じるカルボキシラートが分子



Scheme 4 ヘミアセタールラクトン **3** の合成

内エポキシドへ付加することで5員環ラク톤を形成した **29** が得られた。最後にラクトン上の第二級水酸基選択的な酸化反応と TIPS 基の除去を行うことで α 位の異性化を伴いながらヘミアセタール環化が進行し、ヘミアセタールラクトン **3** の構築を達成した。以上の結果からアルドール成績体 **27** の C-30,31 オレフィンの選択的エポキシ化反応は嵩高い官能基に隣接しているため反応性が低減していることが示唆された。そこで立体障害がより少ない **9** に対して Sharpless 不斉エポキシ化反応を用いて立体選択的にエポキシ **31** を構築した後に Swern 酸化、methyl butyrate とのアルドール反応を経て、鎖状エポキシド **32** を得た。先の合成手法と同様の条件を経ることで **3** へと導き、収率改善を達成した⁸⁾。

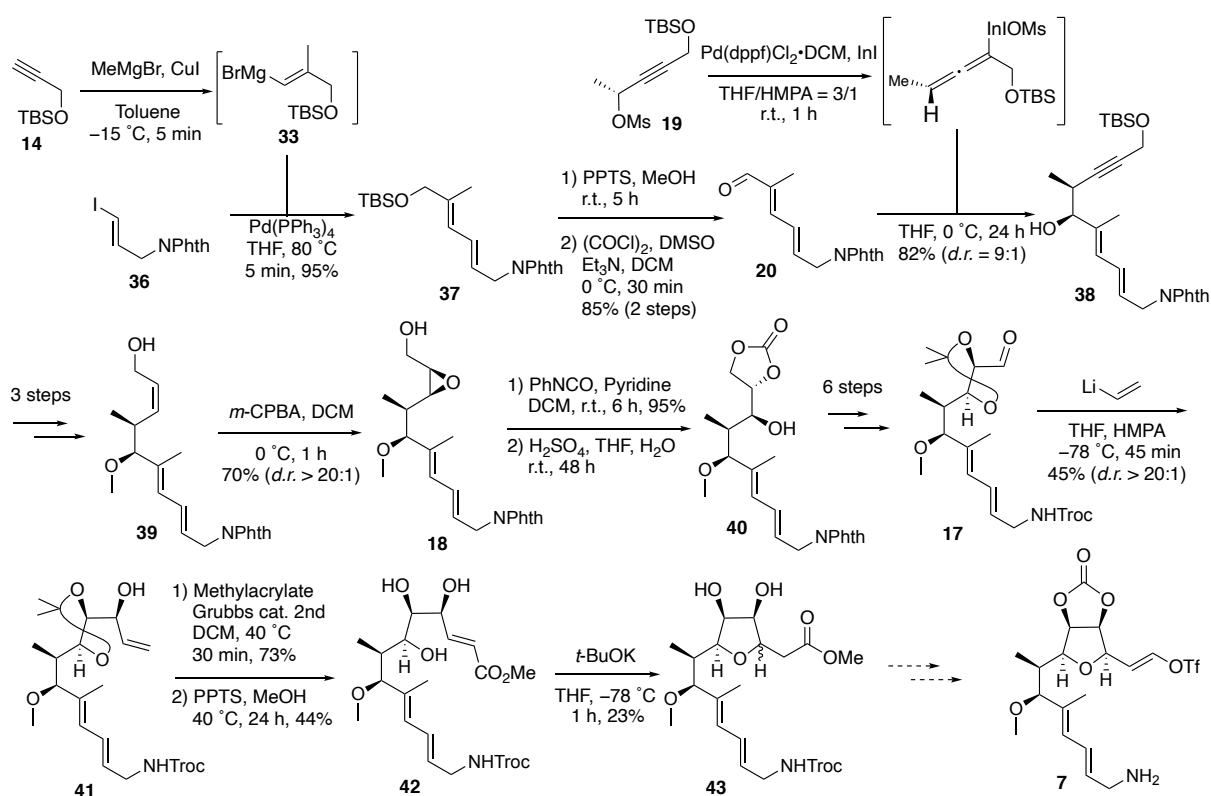
②ピリドン **6** の合成：三置換オレフィンを有する *E,E*-ジエンの効率的構築とアシル転位を含むジヒドロピランの構築検討に着手した(Scheme 5)。はじめに TBS 基で保護されたプロパルギルアルコール **14** に対してカルボメタル化反応を検討した結果 CuI、MeMgBr を用いた条件において速やかに反応が進行し、生じたビニルマグネシウム種と別途調製したビニルヨウ素 **15** との Pd 触媒を用いた熊田クロスカップリング反応を行うことで *E,E* ジエン **34** を一挙に構築した。続けて第一級水酸基の TBS 基の除去と酸化反応を経て酸塩化物 **13** を調製した。次にジヒドロピラン環の構築検討の結果、**12** と **13** から調製した **11** に対して Kappe らによって報告された KCN を用いた塩基性条件⁹⁾で Fries 転位と oxa-Michael 反応が進行し目的の **6** が得られ、ジヒドロピラン環の構築を達成した。



Scheme 5 ピリドン **6** の合成

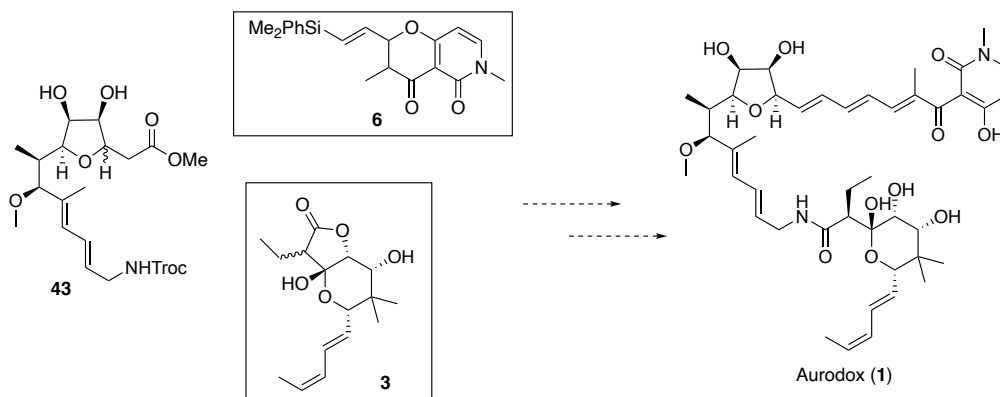
③テトラヒドロフラン **7** の合成：連続不斉炭素を有するテトラヒドロフラン **7** の合成に着手した (Scheme 6)。Marshall プロパルギル化反応に用いる三置換オレフィン含有 *E,E*-ジエンはピリドンフラグメントで用いたジエンの合成法と同様の手法を用いて **37** を構築し、第一級水酸基の TBS 基の除去と酸化反応を経てアルデヒド **20** を合成した。続いて別途調製したキラルなメシラート **19** から調製したキラルアレニル試薬を用いてアンチ選択的 Marshall プロパルギル化反応を用いたところ高収率かつジアステレオ

選択的にカップリング体 **38** を取得した。続いて *O*-メチル化、アルキンの還元と TBS 基の除去を経てアリルアルコール **39** を合成した後に *m*-CPBA を用いたところ高い立体選択的で **18** を得た。続いて Roush らの手法¹⁰⁾を基にエポキシカーバメートを経由した酸性条件化エポキシの開環に伴うカーボネートの形成を行い、**40** を得た。さらに種々官能基変換によりアルデヒド **17** を調製した後に、立体選択的ビニル基の付加を検討した結果、THF/HMPA 溶媒、Vinyl Li を用いて反応を行ったところ高い立体選択性でビニル付加体 **41** が得られた。本反応の立体選択性は Polar Felkin-Ahn model にて付加が進行することで所望の立体化学を有する **41** が得られていると考えられる。最後に methyl acrylate との交差メタセシス反応を行った後に、アセトニド基の除去と oxa-Michael 反応を行うことでテトラヒドロフランを形成した **43** を合成した。これによりテトラヒドロフラン **7** の基本骨格の構築を達成した。



Scheme 6 テトラヒドロフラン環の構築

【総括】著者は新たな抗感染症薬として期待できる aurodox の全合成研究に着手し、特徴的な骨格で分割したピリドン **6**、テトラヒドロフラン **7** とヘミアセタール **3** を設定し、それらの基本骨格の構築を達成した。今後それぞれのカップリング反応が検討されることで全合成達成が期待される(Scheme 7)。



Scheme 7 今後の展望

【参考文献】

- 1) C. J. Hueck, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **1998**, 62, 379-433.
- 2) A. Abe, U. Heczko, R. G. Hegele, B. B. Finlay, *J. Exp. Med.* **1998**, 188, 1907-1916.
- 3) K. Kimura, M. Iwatsuki, T. Ngai, A. Matsumoto, Y. Takahashi, K. Shiomi, S. Ōmura, A. Abe, *J. Antibiot.* **2011**, 64, 197-203.
- 4) L. Vogeley, G. J. Palm, J. R. Mesters, Hilgefelf, *J. Biol. Chem.* **2001**, 276, 17149-17155.
- 5) (a) R. E. Dolle, K. C. Nicolaou, *J. Am. Chem. Soc.*, **1985**, 107, 1691-1694. (b) R. E. Dolle, K. C. Nicolaou, *J. Am. Chem. Soc.*, **1985**, 107, 1695-1698.
- 6) R. L. Tate III, B. A. Halley, R. Taub, M. L. Green-Erwin, S. H. L. Chiu, *J. Agric. Food. Chem.*, **1989**, 37, 1165-1169.
- 7) J. L. Douglas, T. Money, *Can. J. Chem.*, **1968**, 46, 695.
- 8) M. Ohara, A. Ikeda, A. Nakajima, T. Ōno, Y. Noguchi, A. Watanabe, T. Hirose and T. Sunazuka, *Tetrahedron Lett.*, **2021**, 66, Article 152799.
- 9) B. Schenell, T. Kappe, *Monatshefte für Chemie* **1998**, 129, 871-885.
- 10) W. R. Roush, R. J. Brown, and M. DiMare, *J. Org. Chem.* **1983**, 48, 5083-5093.